

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA  
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA  
ESCUELA DE MEDICINA VETERINARIA**

**Determinación de la presencia de anticuerpos contra *Neospora*  
*caninum*, por la prueba de ELISA, en vacas con problemas  
reproductivos, en la Finca “San Vicente”, Tecpán Guatemala.**

**TESIS**

**PRESENTADA A LA HONORABLE JUNTA DIRECTIVA DE LA FACULTAD DE  
MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA DE LA UNIVERSIDAD DE SAN  
CARLOS DE GUATEMALA**

**POR**

**SERGIO JOSUÉ SALAZAR GARCÍA**

**AL CONFERÍRSELE EL GRADO ACADÉMICO DE**

**MÉDICO VETERINARIO**

**GUATEMALA, FEBRERO DE 2010**

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA  
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA**

**JUNTA DIRECTIVA**

**DECANO:** Med. Vet. Dr. Leonidas Ávila Palma

**SECRETARIO:** Med .Vet. Dr. Marco Vinicio García Urbina

**VOCAL I:** Med .Vet. Yeri Edgardo Véliz Porras

**VOCAL II:** Mag. Sc. M.V. Fredy González Guerrero

**VOCAL III:** Med .Vet .Y Zoot. Mario Antonio Motta González

**VOCAL IV:** Br. Set Levi Samayoa López

**VOCAL V:** Br. Luis Alberto Villeda Lanuza

**ASESORES**

M.V. Leonidas Ávila Palma

M.V. Manuel Eduardo Rodríguez Zea

M.V. MSP Jaime Rolando Méndez Sosa

**HONORABLE TRIBUNAL EXAMINADOR**

**EN CUMPLIMIENTO A LO ESTABLECIDO POR LOS  
PRECEPTOS QUE  
ESTABLECE LA LEY DE LA UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE  
GUATEMALA**

**PRESENTO A CONSIDERACIÓN DE USTEDES EL TRABAJO DE TESIS  
TITULADO:**

**Determinación de la presencia de anticuerpos contra *Neospora*  
*caninum*, por la prueba de ELISA, en vacas con problemas  
reproductivos, en la Finca “San Vicente”, Tecpán Guatemala.**

**EL CUAL FUERA APROBADO POR LA JUNTA DIRECTIVA DE LA  
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA, PREVIO A  
OPTAR EL TITULO DE**

**MÉDICO VETERINARIO**

## **ACTO QUE DEDICO**

### **A DIOS:**

Ser supremo y creador, que me ha dado la vida y ha permitido que mi propósito de ser Médico Veterinario este llegando a convertirse en un logro en mi vida.

### **A JESUS:**

Mi amigo, porque a través de el siempre pude llegar hasta Dios, para pedir y agradecer por cada momento bueno y malo en mi vida, gracias Jesús.

### **A MI FAMILIA:**

Quienes saben el esfuerzo y sacrificio que hice, con su apoyo, para lograr alcanzar esta meta.

### **A MIS PADRES:**

**Elvidio Gabino Salazar Herrera**

Está en la gloria con Dios pero está gozando en este momento al verme triunfar.

**María Otilia García Álvarez:**

Mamá le agradezco todo su esfuerzo y apoyo. Aquí está mi triunfo. Dios la bendiga.

### **A MIS HERMANOS:**

Delmy, Milbia, Nesly, Dori, Rudy.

Gracias hermanos, que Dios los bendiga.

### **A MIS SOBRINOS:**

Con mucho cariño

### **A MI ESPOSA:**

Clara Lucía, por ser más que una esposa y compañera has sido mi apoyo en los últimos años de mi carrera.

### **A MI HIJA:**

Luci Adoración, Dios ha permitido que estés conmigo y has sido el motivo para que yo viva. Te quiero mucho hija.

# **TESIS QUE DEDICO**

## **A DIOS:**

Por poner en mí camino esta tarea, y permitir que sea un logro.

## **A MI PATRIA GUATEMALA**

## **A SANTA LUCIA MILPAS ALTAS**

## **A MIS ASESORES:**

M.V. Leonidas Ávila Palma

M.V. Manuel Eduardo Rodríguez Zea

M.V. MSP Jaime Rolando Méndez Sosa

Por su apoyo e interés en mi trabajo de tesis.

## **A MIS PADRINOS:**

**Doctor:** Ludwig Figueroa

**Doctor:** Sergio Véliz

Catedráticos que compartieron sus conocimientos y su amistad.

## **A COLABORADORES:**

Doctor: Rafael Arriola, Doctora: Andrea Muñoz, Doctora Virginia de Corzo. Por su valiosa ayuda en la elaboración de mi trabajo de tesis.

Licenciado: Edgar Polanco, Supervisor de mi Ejercicio profesional Supervisado, por su apoyo y amistad.

# ÍNDICE

I. INTRODUCCIÓN.....	1
II. HIPÓTESIS.....	3
III. OBJETIVOS.....	4
3.1 GENERAL.....	4
3.2 ESPECÍFICO.....	4
IV. REVISION DE LITERATURA.....	5
4.1 HISTORIA.....	5
4.2 AGENTE ETIOLÓGICO.....	6
4.3 CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA.....	6
4.4 MORFOLOGÍA.....	6
4.5 ETIOLOGIA.....	8
4.6 CICLO EVOLUTIVO.....	9
4.7 TRANSMISIÓN.....	11
4.7.1 VÍAS DE INGRESO.....	11
4.7.1.1 VÍA TRANSPLACENTARIA.....	11
4.7.1.2 VÍA ORAL.....	11
4.7.2 FORMAS DE INGRESO.....	12
4.7.2.1 PASIVA.....	12
4.8 PATOGENIA Y CLÍNICA.....	13
4.9 DIAGNÓSTICO.....	14
4.10 TRATAMIENTO Y PREVENCIÓN.....	17

4.11 INMUNIDAD.....	18
4.11.1 Vacunación versus Inmunización Y Protección.....	21
4.11.2 Perspectivas para la vacunación en la Neosporosis Bovina.....	21
V. MATERIALES Y MÉTODOS.....	25
5.1 MATERIALES.....	25
5.1.1 Recursos Humanos.....	25
5.1.2 De Laboratorio.....	25
5.1.3 De Campo.....	26
5.1.4 De tipo Biológicos.....	27
5.1.5. Centros de Referencia.....	27
5.2 MÉTODOS.....	27
5.2.1 DEFINICIÓN DE LA MUESTRA.....	27
5.2.2 TOMA DE MUESTRAS.....	27
5.2.3 Kit para la detección de anticuerpos contra <i>Neospora caninum</i> .....	28
5.2.3.1 Principios de la Prueba.....	28
5.2.4 PROCESAMIENTO DE LAS MUESTRAS EN EL LABORATORIO.....	29
5.2.4.1 PREPARACIÓN DE LA MUESTRA.....	29
5.2.4.2 PREPARACIÓN DE LA SOLUCIÓN DE LAVADO.....	29
5.2.4.3 PROCEDIMIENTO DE TEST.....	29
5.2.4.4 INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS.....	31
5.3ANÁLISIS DE DATOS.....	31
VI.RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	32

VII.	CONCLUSIONES.....	33
VIII.	RECOMENDACIONES.....	34
IX.	RESUMEN.....	35
X.	BIBLIOGRAFÍA.....	36
XI.	ANEXOS.....	38

11.1	LISTADO DE VACAS MUESTREADAS QUE PRESENTAN PROBLEMAS REPRODUCTIVOS, OBTENIDO EN LA FINCA SAN VICENTE, TECPÁN GUATEMALA.....	39
11.2	CONTROL DE MUESTRAS EN EL LABORATORIO CON LOS RESULTADOS DEL ANÁLISIS, POR LA PRUEBA DE ELISA...40	
11.3	RESULTADOS OBTENIDOS A TRAVÉS DE LA PRUEBA DE ELISA DE LOS ANIMALES DE LA FINCA SAN VICENTE.....	41
11.4	TABLAS Y GRÁFICAS.....	42
11.4.1	Cuadro: Diagnóstico de las muestras de los Bovinos de la Finca San Vicente.....	42
11.4.2	Gráfica: Diagnóstico de las muestras de los Bovinos de la Finca San Vicente.....	42
11.4.3	Cuadro: Porcentaje de las muestras de los Bovinos de la Finca San Vicente.....	43
11.4.4	Gráfica: Porcentaje de las muestras de los Bovinos de la Finca San Vicente.....	43
11.5.	FOTOGRAFÍAS.....	44
11.5.1	Fotografía 1 Toma de Muestra de sangre (Vena Yugular).....	44
11.5.2	Fotografía 2 Muestras de Sangre (Separación de Suero).....	44
11.5.3	Fotografía 3 Procedimiento de laboratorio a través de la prueba de ELISA.....	45



11.5.4 Fotografía 4 Procedimiento de laboratorio a través de la prueba de ELISA.....	45
XII. APÉNDICES.....	46
12.1 Ciclo Evolutivo de <i>Neospora caninum</i> .....	47
12.2 Fases durante el ciclo de vida de <i>Neospora caninum</i> .....	48

## I. INTRODUCCIÓN

La Neosporosis, también conocida como Neosporosis Fetal Bovina y Neosporosis Abortiva bovina, es una enfermedad provocada por el Protozoo: *Neospora caninum* que afecta principalmente a terneros recién nacidos y a hembras gestantes, cursa con un cuadro neuromuscular de ataxia y contractura articular de las extremidades y en las hembras gestantes, con muerte fetal acompañada de retención o aborto (2).

Se le atribuye una distribución mundial, aunque hasta ahora ha sido diagnosticada en América del norte, Canadá, México, Australia, Nueva Zelanda, Japón y África del Sur. En Europa se ha reportado en Noruega, Suecia, Dinamarca, Holanda, Suiza, Francia, Irlanda y Reino Unido (2).

Su importancia económica no ha sido evaluada, porque es una enfermedad de reciente conocimiento y de difícil diagnóstico. Estos aspectos hacen que no se disponga de datos suficientemente significativos sobre su distribución y prevalencia. En cualquier caso, las pérdidas económicas están relacionadas con descenso de la producción láctea, disminución de la fertilidad, pérdida total de la capacidad reproductora debida a la repetición de los abortos e incremento de la mortalidad perinatal (2).

En algunas partes de Guatemala, se encuentran problemas reproductivos en el ganado lechero, como es el caso de algunas lecherías de Tecpán Guatemala, en donde se han llevado a cabo estudios para determinar la causa de los mismos como en el caso de Brucelosis, Leptospirosis, Diarrea Viral Bovina, Rinotraqueítis Infecciosa Bovina, dando resultados negativos.

Este estudio se llevó a cabo en la Finca San Vicente, Tecpán Guatemala, donde han existido problemas reproductivos en vacas, a las cuales se les han realizado pruebas de diagnóstico de laboratorio para determinar la causa, las cuales han sido negativas a enfermedades como las que mencionamos anteriormente, por lo que se sospecha que la causa sea Neosporosis, por lo que se puede determinar la presencia, por medio de la Prueba de Elisa.

## II. HIPÓTESIS

No existe presencia de anticuerpos contra *Neospora caninum* en bovinos de la finca “San Vicente”. Tecpán Guatemala.

### III. OBJETIVOS

#### 3.1 GENERAL:

- Contribuir al conocimiento de las enfermedades que se manifiestan con problemas reproductivos en bovinos de la finca San Vicente, en Tecpán Guatemala.

#### 3.2 ESPECÍFICO:

- Determinar la presencia de anticuerpos de *Neospora caninum* en vacas con problemas reproductivos del hato de la finca San Vicente, en Tecpán Guatemala.

## IV. REVISIÓN DE LITERATURA

### 4.1 HISTORIA

La historia de neosporosis se inicia en 1984 con un reporte de Bjerkas en Noruega de un caso de encefalitis y miocarditis en caninos, producido por un protozooario. Dubey y col, en 1988 propusieron el nombre de *Neospora caninum* y lograron comprobar los postulados de Koch en esta especie. Thilsted y col, en 1989 reporta su participación como causa de aborto en bovinos y un año después Dubey y su grupo demostraron la transmisión transplacentaria en caninos, felinos, ovinos y bovinos. En el año de 1991 fue considerada como la mayor causa de abortos bovinos en el Estado de California. En 1993 Conrad y Col, logran reproducir la enfermedad al inocular taquizoitos en bovinos en forma experimental. (1)

Desde el punto de vista diagnóstico el mismo Bjerkas en 1991 reportó que las cepas aisladas en caninos son idénticas a las aisladas en bovinos. Con este hallazgo y el desarrollo de técnicas de diagnóstico inmuno histoquímico (Lindsay, 1989) y de ELISA (Bjorkman, 1994) se amplían las herramientas diagnósticas. A pesar de los estudios realizados quedaban por definir algunos aspectos relacionados con el ciclo de vida del protozooario especialmente referentes con el huésped definitivo de la entidad, y aunque este tema fue elaborado desde 1988 por varios autores como Dubey y col, solamente en 1998 el grupo de McAllister y col, logran definir al perro como huésped definitivo al haber demostrado la presencia de ooquistes en materia fecal de animales alimentados con tejidos infectados de taquizoitos (1)

## 4.2 AGENTE ETIOLÓGICO

*Neospora caninum* es un protozoo del phylum Apicomplexa, familia *Sarcocystidae*.

(5)

## 4.3 CLASIFICACIÓN TAXONÓMICA:

Reino: Protozoo

Orden: Eucoccidiidae

Suborden: Eimeria

Phylum: Apicomplexa

Clase: Sporozoa

Subclase: Coccidia

Familia: Sarcocystidae

Genero: Neospora

Especie: caninum (5)

## 4.4 MORFOLOGÍA

Durante el ciclo de vida de *Neospora caninum* presenta las siguientes fases:

- TAQUIZOITOS

Es uno de los tres estados infecciosos de *Neospora caninum* y se encuentra en el hospedador intermedio y en forma intracelular, generalmente a nivel citoplasmático, específicamente, en la vacuola parasitófaga de la célula hospedador. Puede parasitar a un gran número

de células como neuronas, macrófagos, fibroblasto, células endoteliales, miocitos, hepatocitos (1)

Los taquizoitos se dividen por endodiogénesis en forma rápida. Miden aproximadamente 7,5 micrones aprox. (3 – 7micrones) de longitud, tienen entre 6-16 roptries y en algunos casos presentaron entre 4-6 roptries localizados posterior al núcleo, raramente se observa un microporo. Son de forma ovoide, semilunar o globosa. (1)

- BRADIZOITOS

Los bradizoitos se dividen por endodiogénesis, en forma lenta, encontrándose dentro de los quistes tisulares. Miden aproximadamente 7-8 micrones, contiene los mismos organelos que el taquizoito, pero presentan un número menor de roptries. Morfológicamente son similares a los taquizoitos. (1)

- QUISTES

Es un estado encontrado en el hospedador intermedio. Los quistes en el tejido son ovalados o redondos y miden hasta 107 micrones de diámetro y se encuentran primariamente en el sistema nervioso central, dentro de estos encontramos los bradizoitos aproximadamente 50 - 500 .Su pared es lisa y gruesa. (1)



- OOQUISTES

No Esporulados:

Son los eliminados por los perros infectados experimentalmente, midiendo entre 11.3 a 11.7 micrones de diámetro. (1)

Esporulados:

Los ooquistes esporulados, son los que después de tres días en el medio ambiente contienen dos esporo-quistes con cuatro esporozoitos cada uno, son morfológicamente similar a los ooquistes de *Toxoplasma gondii* y Hammondia en perro. (1)

#### 4.5 ETIOLOGÍA

La enfermedad está producida por un coccidio formador de quistes, pertenecientes a la familia Sarcocystidae, Género Neospora. Sólo una especie ha sido citada, como agente productor de una encefalomiелitis congénita y ataxia locomotora, inicialmente descrita como organismo afín a *Toxoplasma gondii* (1).

Los bovinos, ovinos, caprinos y aun los equinos son huéspedes intermediarios donde Neospora cumple la fase de reproducción asexual pudiendo desarrollar la enfermedad, que en los bovinos se caracteriza por aborto (1).

Todo parece indicar que el perro actúa como huésped definitivo, que al ingerir fetos, placenta y carne de animales portadores se da la oportunidad para que el parásito cumpla la fase sexual de su reproducción a nivel intestinal, produciendo ooquistes que se eliminan por heces contaminando pastos y aguas con la posibilidad de infestar

bovinos. No se descarta que otras especies de carnívoros como zorros y mapaches puedan jugar el mismo papel del perro. Los felinos cada día están más excluidos de esta participación, manteniendo la característica de huésped definitivo para *Toxoplasma* (1).

#### **4.6 CICLO EVOLUTIVO**

Los hospedadores definitivos adquieren la infección al ingerir tejidos de hospedadores intermediarios conteniendo quistes. La pared del quiste es degradada por los jugos gástricos liberando las formas parasitarias que iniciarán los estados enteroepiteliales. Luego de realizar una fase de reproducción asexual y sexual en el intestino, los ooquistes son eliminados en las heces del hospedador definitivo. Los perros que consumen tejidos infectados pueden eliminar ooquistes manteniendo su condición de seronegativos. Por otro lado, un canino que se comporte como hospedador intermediario puede ser seropositivo y transmitir la infección verticalmente a sus cachorros o presentar miositis, parálisis y dermatitis. La frecuencia con la cual los perros pueden adquirir la infección en la naturaleza es motivo de debate, sin embargo, la exposición postnatal de los caninos está demostrada por el incremento de la seroprevalencia en perros de mayor edad.

Siendo infectivos a las 24 hrs. Después de su eliminación en las heces, los ooquistes ingresan a los hospedadores intermediarios por la vía oral. Los esporozoitos liberados en el aparato gastrointestinal del hospedador intermediario, son capaces de alcanzar las vías sanguínea y linfática accediendo a todos los tejidos, no obstante sólo se ha informado la presencia de quistes en el sistema nervioso central (SNC) y el tejido muscular. Aunque el bovino puede infectarse por la vía oral siendo el ciclo de vida

heteroxeno, la principal vía de transmisión es la congénita. Esta vía ha sido también demostrada experimentalmente en ovinos, caprinos, ratones, caninos, felinos, porcinos y primates. Por otro lado, si bien la transmisión vertical es la forma de infección más frecuente en bovinos, ello no explicaría debidamente el elevado número de hatos infectados. El hecho de haberse determinado que los bovinos pueden tener seroconversión por una exposición postnatal avala la importancia de la transmisión horizontal, motivando intensa investigación, el descubrimiento de otras vías de infección postnatal. Además, la transmisión vertical no sería un mecanismo suficiente para mantener la infección en una población bovina debido a que su eficiencia es inferior al 100%. En una hembra bovina, luego de una infección oral (infección exógena) o por reactivación de quistes tisulares en estado de latencia adquiridos congénitamente (infección endógena), el parásito alcanza la vía sanguínea y es capaz de atravesar la placenta accediendo al feto. Luego de invadir el feto, puede ocasionarse el aborto o la transmisión vertical con nacimiento de un ternero clínicamente normal pero congénitamente infectado (4).

El protozoo puede ser eliminado a través del semen en toros y su ácido desoxirribonucleico (ADN) ha sido ocasionalmente detectado en muestras de semen congelado. Aunque los toros se comportan como hospedadores intermediarios sería poco probable la ocurrencia de transmisión venérea, sin embargo, esta posibilidad aún no ha sido investigada (4).

Considerando que los taquizoitos adicionados artificialmente a la leche resultaron infectivos para terneros; la eliminación del protozoo a través de la glándula mamaria debería ser motivo de investigación. En el posparto o tras el aborto, la placenta con presencia de taquizoitos podría servir como fuente de infección para otra vaca que la

ingiera. Sin embargo, dos terneros y dos vacas libres de *Neospora caninum* mantuvieron dicha condición luego de consumir placentas naturalmente infectadas (4).

El hecho de haberse informado que el coyote puede comportarse como hospedador definitivo y que otras especies, como por ejemplo los ciervos, pueden servir como hospedadores intermediarios , avalan la existencia de ciclos de vida silvestre de *Neospora caninum*. Si bien existen evidencias de exposición natural y experimental a *Neospora caninum* en otros cánidos salvajes y aves, el riesgo epidemiológico de estas especies es aún desconocido (4).

## **4.7 TRANSMISIÓN**

### **4.7.1 VÍAS DE INGRESO**

#### **4.7.1.1 VÍA TRANSPLACENTARIA** (Transmisión Vertical)

Transmisión natural. Es la forma más común de transmisión de *Neospora caninum*. La madre infectada transmite la infección al ternero el cual puede ser abortado entre los 4 y 6 meses, o bien producir el nacimiento de un ternero infectado que puede ser clínicamente normal o padecer de anomalías nerviosas. La infección se transmite a su descendencia. (1)

#### **4.7.1.2 VÍA ORAL** (Transmisión Horizontal)

El perro es el huésped definitivo, por lo tanto, el principal factor de difusión de la enfermedad, contaminando con su materia fecal las pasturas, aguas y alimentos donde las vacas conviven y al ingerir dichos focos de contaminación adquieren la enfermedad ( 1).

#### **4.7.2 FORMAS DE INGRESO**

Por presentar un ciclo de vida Heterógeno se tiene en cuenta solo la forma en que se transmite al Hospedero Definitivo. (1)

##### **4.7.2.1 PASIVA**

Los taquizoitos se localizan en distintos tejidos, pero sólo forma quistes (con bradizoítos), los quistes tisulares con bradizoítos presentes en fetos, placenta y carne de animales portadores son ingeridas por el perro el cual actúa como hospedador definitivo. (1)

Otro criterio también toma en cuenta al Hospedero intermediario (Transmisión Horizontal). (1)

El Perro actúa como hospedador definitivo, eliminando ooquistes en sus heces luego de unos pocos días esporular los ooquistes esporulados son los que después de tres días en el medio ambiente contienen dos esporoquistes con cuatro esporozoitos cada uno y entonces están listos para infectar, los cuales no realizan ningún tipo de esfuerzo para ingresar al bovino y a otros animales, puesto que este ingiere los ooquistes que se encuentran en los pastizales, maizales, agua o alimentos. (1)

Una de las vías de transmisión, es la vertical o transplacentaria. Según la etapa de la gestación en que se produce la infección, ésta podrá resultar en un aborto, muerte perinatal o en el nacimiento de una ternera infectada, lo que condicionará la permanencia de la infección en el rodeo. La otra vía de transmisión es la horizontal. (1)

También se ha comprobado que los perros pueden infectarse mediante la ingestión de placentas de animales infectados, que probablemente vehiculicen taquizoitos o quistes de *Neospora caninum*. (1)

De lo dicho anteriormente, y dada la existencia de estas dos formas de transmisión, se deduce que la eliminación de animales positivos de un rodeo no es suficiente para controlar la infección, ya que la presencia de perros eliminadores de ooquistes podría contribuir con el mantenimiento de la misma. (1)

#### **4.8 PATOGENIA Y CLÍNICA**

La acción patógena del parásito esta ligada a la capacidad de multiplicación que tienen los taquizoitos en los distintos tipos de células en donde provocan su destrucción. Esta es especialmente importante en el tejido muscular y nervioso, aunque en el ganado vacuno sólo se desarrolla en el SNC, con resultados de una encefalitis, que se produce hacia el mes de la infección. Sin embargo, como consecuencia de la transmisión transplacentaria, se desarrolla en los fetos una afección tisular más generalizada, con lesiones que se producen de manera constante en el cerebro, medula espinal y corazón, más esporádicamente en pulmón, riñones y membranas fetales. Las lesiones especialmente, notables en el tejido nervioso, se caracterizan por focos de necrosis rodeados de células de glía y de abundante infiltrado perivascular de mononucleares. El cuadro histopatológico viene definido por una meningoencefalitis multifocal no purulenta. En la placenta y miocardio son frecuentes las grandes áreas de infiltración y de necrosis difusa. La acción conjunta de meningoencefalitis, miocarditis y placentitis, determinan en la mayoría del los casos, la muerte del feto. Son dos las consecuencias de la muerte fetal, el aborto, que por regla

general se produce entre los tres meses y medio y los nueve meses de gestación, con una media de cinco meses y medio, y la retención. Los fetos retenidos pueden ser reabsorbidos total o parcialmente; si lo son de manera parcial, da lugar a la formación de fetos momificados, que pueden abortarse o retenerse hasta el final de la gestación. En estos casos la muerte fetal se produce al inicio de la gestación. Las vacas de vientre que mantienen la infección en fase de parasitemia persistente o intermitente, son capaces de transmitir la infección a los fetos en sucesivas gestaciones. (2)

La forma quística no ocasiona, por lo general, una acción patógena destacada, ni tan siquiera una mínima reacción inflamatoria por parte del hospedado, sin embargo, cuando por circunstancias desconocidas se produce la ruptura del quiste, puede suceder que los bradizoítos liberados migren hacia la zonas próximas y se formen áreas dispersas de reacción inflamatoria locales, o bien, como fenómenos más frecuentes se produzca la degeneración del quiste y su sustitución por un granuloma. No se sabe como dichas alteraciones morfológicas inciden en la clínica de las enfermedades. (2)

#### **4.9 DIAGNÓSTICO**

Para el diagnóstico de la neosporosis bovina se deben analizar el feto, y los sueros del feto y de la madre. Frecuentemente, los resultados que sugieren la neosporosis como causa de aborto, cobran solidez cuando no hay indicios de la acción de otra enfermedad abortigénica. (3)

La identificación de *Neospora caninum* en los tejidos de fetos o temeros perinatales, mediante técnicas directas, ofrecen mayor certeza diagnóstica. Las

técnicas directas y/o indirectas usadas son la histopatología, inmuno histoquímica, PCR, y los aislamientos in Vitro. (3)

El análisis histopatológico de los tejidos de los fetos, es uno de los más relevantes para el diagnóstico de la neosporosis. Los órganos adecuados en orden de importancia son el cerebro, corazón e hígado. Las lesiones más características de esos tejidos son las inflamaciones no supurativas. En el cerebro es característica la encefalitis necrotizante no supurativa multifocal. Es importante analizar la extensión de las lesiones y su incompatibilidad con la vida del feto. Ello se debe al elevado porcentaje de infecciones congénitas en terneros clínicamente normales. Otras protozoarios que pueden causar lesiones semejantes son *Toxoplasma gondii* y *Sarcocystis spp.* Sin embargo estos son de hallazgo poco frecuente, y el primero no es considerado abortigénico en bovinos. (3)

La inmuno histoquímica permite identificar los parásitos en los tejidos y debe sumarse a los resultados obtenidos mediante histopatología. Esta es una prueba muy laboriosa y su sensibilidad es relativa. Se deben examinar cortes de 3-5 áreas del cerebro y de otros tejidos. El hallazgo de algún quiste o acúmulo de taquizoitos, define una infección congénita, pero no la causa del aborto.

La reacción en cadena para la polimerasa (PCR), es una técnica de alta sensibilidad y especificidad, aunque su uso no está extendido para el diagnóstico, sino para la investigación. (3)

El aislamiento de Neospora en cultivos in vitro permite la caracterización del parásito y es especialmente útil para los estudios epidemiológicos regionales. No es sencillo a partir de fetos abortados, lo que aparentemente depende del grado de autólisis (a la que es sensible Neospora), y de la abundancia y distribución del parásito



en el tejido seleccionado. También se utiliza para este fin los cultivos in vivo a partir de inoculaciones de tejido sospechoso a lauchas. (3)

El diagnóstico de la infección por *Neospora caninum* en las vacas, se basa en el análisis del suero sanguíneo para detectar la presencia de anticuerpos específicos (técnicas indirectas). Las técnicas más usadas son la inmunofluorescencia indirecta (IFI) y las inmuno enzimáticas (ELISA). Estas pruebas son valiosas para el diagnóstico los hatos pero menos útiles para el diagnóstico individual, como en los casos de aborto. El hallazgo de anticuerpos contra *Neospora caninum* en vacas que abortaron no confirma que la neosporosis haya sido la causa. En hatos donde la neosporosis es Enzootica, vacas que paren normalmente pueden ser reactoras positivas. Es recomendable analizar simultáneamente suero de vacas con y sin antecedentes de aborto, para comparar además de la presencia de anticuerpos sino también el nivel de los mismos. En la mayoría de los casos, los títulos son mayores en vacas que abortaron por Neospora. Esto último es más significativo en los casos de los abortos epizooticos. La respuesta serológica difiere entre rodeos con abortos enzoóticos y los rodeos con abortos epizooticos. En estos últimos se producen mayores títulos en IFI. (3)

La serología fetal puede ser útil para el diagnóstico de infección congénita y abortos, junto a las demás pruebas. Sin embargo, por la gran frecuencia de nacimientos de terneros normales pero con infección congénita, los resultados deben interpretarse con precaución. La ausencia de anticuerpos en fetos infectados puede deberse a la falta de inmuno competencia (<5 meses de edad), autólisis de inmunoglobulinas o muerte antes de producir las mismas. (3)

Sin embargo, también importa en este caso, la abundancia de lesiones y/o parásitos. La sola presencia del parásito, en cortes de tejidos tampoco significa que

haya sido la causa del aborto, porque un elevado porcentaje de terneros con infección congénita se desarrollan normalmente. (3)

#### **4.10 TRATAMIENTO Y PREVENCIÓN**

Existe información acerca de la sensibilidad “*in vitro*” de *Neospora caninum* a ciertos antimicrobianos. De un total de 43 sustancias probadas, 17 ocasionaron una reducción total del número de taquizoitos cultivados *in vitro*. Dentro de las drogas más efectivas están la clindamicina, diclazuril, robenidina y pirimetamina. La eficacia de dichas drogas en bovinos no ha sido aún estudiada (4).

Recientemente, se ha informado que utilizando toltrazuril y ponazuril, los cuales son derivados de una droga llamada triazinona utilizada en el tratamiento de las coccidiosis en mamíferos, se logró disminuir las lesiones cerebrales de terneros inoculados experimentalmente. Actualmente no existe tratamiento en los bovinos que los libere de la enfermedad. La transferencia embrionaria (TE) es una técnica adecuada para evitar la transmisión vertical de la enfermedad.

Para tomar medidas de prevención, es importante tener en cuenta algunos aspectos de manejo (8):

- **Eliminación de animales seropositivos:**

Iniciar con vacas que tengan historia de aborto. Si las vacas no pueden ser eliminadas, se deben inseminar con semen de ganado de carne. Antes de eliminar vacas con historia de aborto se debe diagnosticar y diferenciar el aborto, ya que vacas seropositivas pueden tener otros agentes que coexistan con *Neospora*.

*caninum* (8).

- **Control de la transmisión vertical:**

Controlar por medio de serología a las hembras de reemplazo, ya sea propia o adquirida de otros hatos. Si son propias, sólo dejar como hembras de reemplazo las nacidas de vacas seronegativas. En el caso de utilizarse transplante de embriones, asegurarse que las receptoras son seronegativas (8).

- **Control de transmisión horizontal:**

Evitar el acceso de perros y otros carnívoros a los potreros, almacenes de alimentos y otros recintos, para evitar la contaminación fecal. Asegurarse de eliminar placentas, fetos abortados y animales muertos, para evitar su ingestión por perros acompañantes (8).

En relación al manejo del hospedero definitivo, hay que restringir el uso de perros al máximo y alojar a los utilizados, en forma aislada, para impedir la diseminación de heces en el medio ambiente, así como también el contacto directo con el ganado y con materiales abortados. El muestreo semestral de dichos perros, por medio de cualquier método de diagnóstico es vital para asegurar su negatividad (8).

El rol de los cánidos salvajes en la propagación de la enfermedad aún es discutido, por lo que es conveniente intentar el control del agente en dicha fauna (8).

#### **4.11 INMUNIDAD**

En condiciones naturales, sucede que los animales están sometidos a contagios reiterados y frecuentes, aunque por lo general con dosis bajas; ello hace que conforme el hospedador se va relacionando con el parásito, en aquél se desarrolla una inmunidad protectora que la previene ante las sucesivas infecciones, limitando su

número, las posibilidades de multiplicación del parásito y, por ende, la capacidad de producir daño. (1)

La inmunidad protectora, según se ha comprobado experimentalmente, oscila entre 3 y 9 meses, según la especie y es independiente de la existencia de quistes musculares. (1)

La inmunidad celular mediada por células parece ser entonces un mecanismo importante en la resistencia del huésped hacia Neospora. (1)

En particular las citoquinas de las células T, y el gamma interferón (IFN-g), ha sido demostrado que inhiben la multiplicación celular de la Neospora en cultivos celulares. La proliferación de IFN-g producido por las células T ha sido observada después de la infección de las vacas por Neospora. (1)

#### **a) Resistencia a la enfermedad**

La habilidad del animal para resistir a la enfermedad puede dividirse en dos categorías:

Mecanismos de defensa no específicos o nativos.

Mecanismos de defensa adquiridos: incluyen a los glóbulos blancos fagocíticos, el interferón, el complemento, y otros tipos de leucocitos como los Linfocitos T, en especial los que se denominan células asesinas naturales. Natural Killer T. Los mecanismos de defensa adquiridos pueden dividirse en inmunidad activa, e inmunidad pasiva. La inmunidad adquirida pasivamente es cuando un animal recibe los anticuerpos de una fuente externa. La protección que da la inmunidad pasiva es inmediata, es antígeno específica, pero de vida media corta. Algunos ejemplos de

inmunidad pasiva incluyen, el calostro, antitoxinas, y suero exógeno o terapia de plasma. (1)

La inmunidad adquirida activamente resulta de la recuperación exitosa de una enfermedad o después de una respuesta a la administración de una vacuna. La inmunidad activa adquirida se presenta cuando el animal reacciona contra un antígeno (bacterias, virus, vacuna). (1)

La inmunidad activa requiere tiempo para desarrollarse, es antígeno específica, y una vez establecida, es de por vida. La inmunidad activa adquirida puede estar dividida en inmunidad humoral, inmunidad mediada por células, o inmunidad de las mucosas. (1)

Se necesitan sincronizar varios eventos para poder iniciar una respuesta inmune. Primero, necesita estar presente el antígeno (por enfermedad o por vacuna), para estimular la respuesta (la respuesta inmune es dependiente del antígeno). En segundo lugar, el antígeno tiene que estar presente ante los linfocitos adecuados. El antígeno es enfrentado por las células presentadoras de antígenos (CPA). Estas son células especializadas que se encargan de presentar a los antígenos y ellas son los macrófagos y las células dendríticas. (1)

Estas células juegan un papel clave en la fagocitosis, procesamiento y presentación del antígeno en un formato tal que les permite a los linfocitos responder adecuadamente. Finalmente, los linfocitos son requeridos para completar el círculo de la respuesta inmune. (1)

Una vez activada esta respuesta, los linfocitos específicos producen anticuerpos, o liberan citoquinas que organizan la respuesta inmune para invadir a los organismos patógenos o responder a vacunas. (1)

#### **4.11.1 Vacunación versus Inmunización Y Protección**

La vacunación es simplemente la administración de una vacuna a un animal. No implica que el animal quedó protegido e incluso inmunizado. La inmunización ocurre cuando el animal responde a la vacunación en tal forma que la respuesta puede ser medida. (1)

Esta respuesta es reportada generalmente como un título o como un incremento de cuatro veces la línea base del título. (1)

Una respuesta inmune no asegura la protección contra la enfermedad clínica. Si la enfermedad, sólo puede ser controlada por una respuesta mediada por células pero sólo fue estimulada la respuesta humoral, entonces el animal no está protegido. (1)

La protección ocurre cuando un animal desarrolla una respuesta inmune que es capaz de prevenir la enfermedad clínica después de la exposición a una cepa de campo bacteriana o viral incluyendo una vacuna. (1)

#### **4.11.2 Perspectivas para la vacunación en la Neosporosis Bovina**

Estudios no sólo experimentales, sino también de campo avalan la presencia de mecanismos inmunes que protegen contra el aborto en bovinos crónicamente infectados. Aunque un inmunógeno capaz de inducir una respuesta inmune comparable a la observada en bovinos crónicamente infectados no evitaría la infección y/o la transmisión vertical, podría resultar de interés para evitar el aborto. En un reciente estudio, la respuesta inmune humoral y celular generada por la inoculación de taquizoitos inactivados en vaquillonas durante el 2º tercio de la gestación, fue comparada con aquella observada en animales similares crónicamente infectados. Las respuestas inmunes observadas en ambos grupos resultaron similares en términos de

la generación de anticuerpos específicos. Sin embargo, también se observaron desiguales relaciones entre IgG1 e IgG2 en animales inoculados con taquizoitos inactivados de *Neospora caninum* comparados con aquellas observadas en animales infectados naturalmente sugiriéndose que los mecanismos inmunes desencadenados fueron diferentes.

Para evitar la infección postnatal posiblemente sea necesario el desarrollo de vacunas orales capaces de generar una respuesta inmune a nivel de mucosa gastrointestinal. Dicha respuesta podría limitar el acceso de los esporozoítos a los sistemas linfáticos y gastrointestinales (7).

Diversos antígenos, tales como SAG1, SRS2, GRA2, GRA6 o GRA7, NTP3/NTPASA, los cuales han sido asociados a los gránulos densos, micronemas y otras proteínas de superficie de los taquizoitos, serían capaces de inducir una respuesta inmune de protección. Diversos clones de ADN pertenecientes a estos antígenos han sido descritos y permitirán el desarrollo de vacunas a sub-unidades (7).

Se han desarrollado vacunas para proteger al ganado del aborto y aunque las vacunas con taquizoitos muertos de *Neospora caninum* inducen la síntesis de anticuerpos específicos, fallan en su capacidad para prevenir la infección del feto en las vacas preñadas (6).

La existencia de una vacuna viva atenuada de *Toxoplasma gondii* (Toxovax®) para controlar la toxoplasmosis ovina, alienta el desarrollo de un inmunógeno similar para la *Neosporosis bovina*. Sin embargo, la vacunación de ovejas preñadas con Toxovax® no protege del aborto ante el desafío con *Neospora caninum* (7).

Habría ventajas y desventajas al usar una vacuna viva o una vacuna inactivada en la *neosporosis bovina*. Al utilizar una vacuna viva, el protozoo replicaría dentro de las células ocasionando que el antígeno parasitario sea presentado con antígenos del CMH (Complejo Mayor de Histocompatibilidad) clase 1 quedando satisfecha la estimulación de linfocitos T CD8+, los cuales son importantes en los mecanismos de protección. Al aplicar una vacuna inactivada, por ejemplo taquizoitos de *Neospora caninum*, se estaría estimulando el procesamiento de un antígeno exógeno. Por el contrario, en la enfermedad natural se generaría el procesamiento de antígenos endógenos por ser *Neospora caninum* un parásito intracelular obligado, siendo de esta manera disímil la respuesta celular generada. Sin embargo, queda por dilucidarse si una vacuna, aun siendo inactivada, no protege contra el aborto en hatos naturalmente expuestos. Más aún, existen graves desventajas al usar una vacuna viva existiendo posibilidad de ocasionar infección crónica y transmisión vertical persistente (7).

La seguridad e inocuidad de una vacuna inactivada debería compensarse con el desarrollo de un apropiado adyuvante con adecuado sistema de liberación que garantice una buena respuesta inmune. Choromanski y Block, han descrito que un inmunógeno inactivado genera altos títulos de anticuerpos séricos, siendo inocuo y seguro (7).

Una vacuna inactivada con Havlogen como adyuvante (NeoGuard®) ha sido recientemente aprobada por el Departamento de Agricultura de los EE.UU.

Un laboratorio privado (Intervet) describe en su boletín técnico que la vacuna es segura para su uso en bovinos preñados sanos (7).



Los actuales inmunógeno comerciales ocasionan la producción de anticuerpos anti *Neospora caninum* los cuales no pueden ser diferenciados de aquellos producidos en infecciones naturales. Más aún, existe controversia debido a la utilización de la vacuna debido a que la eliminación de animales seropositivos a la enfermedad ha sido sugerida como medida de control. Es necesario establecer programas nacionales de saneamiento tendientes a reglamentar el uso de inmunógeno y/o medidas de control (7).

La neosporosis bovina tiene aún numerosos enigmas debido a la excelente adaptación del parásito a su huésped (7).

Aun debe ser dilucidado sí y cómo una vacunación eficiente puede proteger contra la infección primaria y si el desarrollo de nuevas vacunas podría aumentar la inmunidad de vacas persistentemente infectadas, como para prevenirlas del aborto (6).

Es necesaria la comprensión de los mecanismos inmunes desencadenados en las infecciones por *Neospora caninum* para desarrollar inmunógeno que eviten las pérdidas reproductivas o la transmisión de la enfermedad (7).

## **V. MATERIALES Y MÉTODOS**

### **5.1 MATERIALES**

#### **5.1.1 Recursos Humanos**

- Estudiante Investigador.
- Personal de Laboratorio del Departamento de Microbiología de la Facultad de Medicina veterinaria y Zootecnia.
- Trabajadores de Finca San Vicente
- Tres Médicos Veterinarios asesores

#### **5.1.2 De Laboratorio**

1. Pipetas de precisión para dispensar 0,006, 0,100 y 0,500 ml, o dispositivos para pipeteado múltiple.
2. Puntas de pipetas desechables
3. Probeta graduada de 500 ml para la solución de lavado
4. Lector para placas de 96 pozos
5. Tubos de plástico o vidrio para diluir las muestras
6. Agua destilada o desionizada.
7. Dispositivo para dispensar y aspirar la solución de lavado
8. Una fuente de vacío y un recipiente para recoger la solución aspirada
9. Reactivos
  - A. 2 Placas recubiertas con antígeno de Neospora.

- B. 30 ml de conjugado antibovino: HRPO
- C. 3 ml. De control positivo de Neospora, antineospora Bovina en tampón con estabilizadores proteicos, con ácido de sodio como conservante.
- D. 3 ml. de Control negativo de Neospora.  
Suero bovino no reactivo frente a Neospora en tampón fosfato  
Con estabilizadores proteicos. Con azida de sodio como conservante
- E. 235 ml. De Diluyente para la muestra  
Tampones con estabilizadores proteicos. Con azida de sodio, como conservante.
- F. 235 ml. concentrado para lavado de fosfato/ Tween 10X.5 Contiene gentamicina, como conservante
- G. 60 ml. Substrato TMB
- H. 60 ml. Solución de interrupción

### **5.1.3 De Campo**

- Tubos de ensayo 10 ml.
- Agujas descartables
- Guantes de látex
- Hielera
- Hielo
- Papel para notas
- Bolígrafos
- Marcador para identificar las muestras
- Maskinteip

#### **5.1.4 De tipo Biológicos:**

- Muestra representativa de sangre de 35 vacas de la finca.

#### **5.1.5. Centros de Referencia:**

- Biblioteca de la Facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia.
- Internet
- Boletines informativos IDDEX

### **5.2 MÉTODOS**

#### **5.2.1 DEFINICIÓN DE LA MUESTRA:**

Las muestras se obtuvieron de 35 vacas en reproducción que han presentado dificultades reproductivas, tales como: abortos, nacimiento de terneros débiles, muerte de terneros al nacimiento, retenciones placentarias, entre otros.

#### **5.2.2 TOMA DE MUESTRAS**

Las muestras fueron tomadas directamente de la vena yugular, de las vacas que presentaban problemas de tipo reproductivo.

Se tomó una muestra de 10 cc. De sangre, en los tubos de ensayo, sin anticoagulante los cuales se colocaron en posición inclinada para obtener el suero, además de identificar cada muestra.

Se llevó una ficha de registro de los animales, de los cuales se obtuvieron las muestras. Esta fue proporcionada por el la administración de la finca. Eran animales que habían presentado problemas reproductivos. (Anexo 11.1)

Las muestras se colocaron en una hielera con hielo, para luego ser transportadas al laboratorio de Microbiología de la facultad de Medicina Veterinaria y Zootecnia de la USAC, donde se realizó la prueba de ELISA, el procesamiento y lectura de las muestras para su diagnóstico.

### **5.2.3 Kit para la detección de anticuerpos contra *Neospora caninum***

#### **5.2.3.1 Principios de la Prueba:**

Herd- Chek: Anti-Neospora en un inmunoanálisis enzimático diseñado para detectar la presencia de anticuerpos contra Neospora en suero de bovino. Se ha creado un formato de microtitulación en el que placas de 96 pozos se recubren con antígeno de Neospora. Al incubar la muestra de prueba en el pozo recubierto, el anticuerpo contra Neospora forma un complejo con los antígenos recubiertos. Después de lavar los pozos para eliminar el material no ligado, se añade un conjugado antibovino: Peroxidasa de rábano, que se une a los anticuerpos bovinos, ligados a los pozos. En el paso final del ensayo, se elimina el conjugado no ligado con un lavado y se añade a los pozos un sustrato de enzima (peróxido de hidrógeno) y un cromógeno tetrametilbencidina 3, 3, 5,5. El color que aparece es proporcional a la cantidad de anticuerpos presentes en la muestra.

## **5.2.4 PROCESAMIENTO DE LAS MUESTRAS EN EL LABORATORIO**

### **5.2.4.1 PREPARACIÓN DE LA MUESTRA**

Se diluyeron las muestras a una razón de 1:100 con el diluyente para muestra (p. ej., diluyendo 5 micro litros de muestra con 500 micro litros de diluyente para muestra).

Se registro la posición de cada muestra en la placa utilizando una hoja de trabajo (anexo 11.1). Se mezclaron las muestras antes de dispensar en las placas recubiertas con Neospora.

### **5.2.4.2 PREPARACIÓN DE LA SOLUCIÓN DE LAVADO**

En concentrado de lavado debía de alcanzar la temperatura ambiente y agitarse para asegurar la disolución de las sales que se hayan precipitado. El concentrado para lavado se diluyó 1:10 con agua destilada/desionizada antes de usarlo (p. ej., 30 ml de concentrado más 270 ml de agua por cada placa analizada).

### **5.2.4.3 PROCEDIMIENTO DE TEST**

Todos los reactivos alcanzaron la temperatura ambiente antes de usarse. Los reactivos debían de agitarse suavemente con movimiento circular o en un vórtex.

1. Se obtuvo la placa (o placas) recubierta de antígeno y se registró la posición de la muestra en la hoja de trabajo.
2. Se vertieron 100 micro litros de control negativo sin diluir en los pozos A1 y A2.
3. se vertieron 100 micro litros de control positivo sin diluir en los pozos A3 y A4.
4. se vertieron 100 ml de muestra diluida en los pozos apropiados. Todas las muestras debían analizarse en duplicado.
5. Se incubó durante 30 minutos a temperatura ambiente.
6. Se aspiró el líquido de todos los pozos y se desecharon en un recipiente para desechos apropiado.
7. Se lavó cada pozo 4 veces con aproximadamente 300 ul de solución de lavado tamponada con fosfato. Se aspiró el líquido de los pozos después de cada lavado. Después de la aspiración de lavado final, se golpeó la placa suave pero firmemente para transferir el líquido residual al material absorbente.
8. Se vertieron 100 micro litros de conjugado antibovino: HRPO en cada pozo.
9. Se incubó durante 30 minutos a temperatura ambiente.
10. Se repitieron los pasos 6 y 7.
11. Se vertieron 100 micro litros de solución de substrato TMB en cada pozo de la placa.
12. Se incubó durante 15 minutos a temperatura ambiente.
13. Se vertieron 100 micro litros de solución de interrupción en cada pozo de la placa para obtener la reacción.
14. Se hizo un blanco en el espectrofotómetro con aire.
15. Se midió y se registra la absorbancia a (650 nm).

#### **5.2.4.4 INTERPRETACIÓN DE LOS RESULTADOS**

Los rangos de D.O (densidad óptica) para los controles negativos son de 0.069 en promedio

Los rangos de D.O (densidad óptica) para controles positivos son de 0.613 en promedio

#### **5.3 Análisis de Datos:**

Se realizó estadística descriptiva como estimación de proporciones, y se estableció el porcentaje de positivos y negativos.



## VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

La investigación se realizó en la Finca San Vicente, Tecpán Guatemala, con 35 vacas de raza Jérey, las cuales presentaban problemas reproductivos tales como: abortos, retención de placenta, nacimiento de terneros débiles, entre otros.

De los sueros de los 35 bovinos, se pudo determinar el resultado de animales positivos y negativos, es decir por la presencia de anticuerpos contra *Neospora caninum* en las muestras (Anexo 11.3).

De las 35 vacas muestreadas que padecían problemas reproductivos, característicos de la enfermedad, tales como abortos, retenciones de placenta, repetición de celos, etc. podemos establecer que 16 fueron positivas, que corresponde al 45.71% y 19 fueron negativas, que corresponde al 54.29%. (Anexo 11.4).

Los factores que favorecen a la enfermedad son altos, ya que se determinó en un 45.71 % en animales que han presentado problemas reproductivo como abortos, retenciones de placentas, nacimiento de terneros débiles.

La prueba para la detección de Anticuerpos contra *Neospora caninum* a través de ELISA, es de gran utilidad para estudios de tipo epidemiológicos o de manejo dentro del hato ganadero, ya que nos orienta a saber que estamos frente a una enfermedad de gran impacto económico y sanitario

## VII. CONCLUSIÓN

En las vacas con problemas reproductivos, de la finca San Vicente se encuentran anticuerpos contra *Neospora caninum* en suero de bovino en un 45.71% de los animales muestreados, a través de la prueba de ELISA,

## **VIII. RECOMENDACIONES**

1. Asegurarse de eliminar placentas, fetos abortados y animales muertos, para evitar su ingestión por parte de perros ambulantes y así evitar la contaminación dentro de los hatos ganaderos.
2. El perro es el huésped definitivo y el principal factor de difusión de la enfermedad, por lo tanto es indispensable la eliminación de perros o restringir el ingreso a los hatos ganaderos y los de vaquería, someterlos a tratamiento para eliminar el parásito.
3. Controlar por medio de serología a las hembras de reemplazo, ya sean propias o adquirida de otros hatos.

## IX. RESUMEN

La Neosporosis, es una enfermedad provocada por el Protozoo: *Neospora caninum* que afecta principalmente a terneros recién nacidos y a hembras gestantes, cursa con un cuadro neuromuscular de ataxia y contractura articular de las extremidades y en las hembras gestantes, con muerte fetal acompañada de retención o aborto.

El estudio se llevó a cabo en la Finca San Vicente, Kilómetro 82 de la carretera a Tecpán Guatemala, donde han existido problemas reproductivos en vacas, a las cuales se les han realizado pruebas de diagnóstico para determinar la causa, las cuales han sido negativas a otras enfermedades que se manifiestan con problemas reproductivos. Al sospecharse de neosporosis, se determinó la presencia de anticuerpos contra la enfermedad en suero de bovinos, por medio de la Prueba de Elisa.

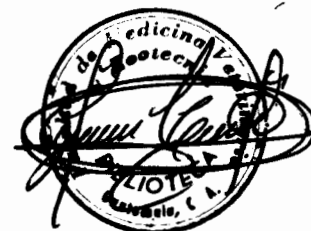
Se obtuvieron 35 muestras de sangre de las vacas que han tenido un historial de padecer: abortos, momificaciones, retención de placentas, varios servicios sin quedar preñadas, entre otros.

Las muestras fueron obtenidas de la vena yugular, en tubos sin anticoagulante, para obtener el suero, se procedió a identificar cada una, se trasladaron al laboratorio de Microbiología de la Facultad de Medicina Veterinaria de la Universidad de San Carlos, para procesarlas a través de la prueba de ELISA.

Los resultados obtenidos fueron los siguientes: Para el análisis de los datos en el laboratorio se utilizó una Densidad Óptica (OD) de 0.069, en promedio para las muestras negativas y 0.693 en promedio para las muestras positivas. Podemos decir que de las 35 muestras obtenidas; 16 fueron positivas, que corresponde al 45.71% y 19 fueron negativas, que corresponde al 54.29%.

## X. BIBLIOGRAFÍA

1. Acacho Inga, R. 2005. *Neospora Caninum* – Parasitología. (en línea). Consultado 15 mar. 2009. Disponible en <http://www.monografias.com/trabajos30/neospora-caninum/neospora-caninum.shtmldiagn>.
2. Cordero del Campillo, M. et al. 1999. *Parasitología Veterinaria*. Madrid ES, McGraw Hill Interamericana. p. 330-332, 668-669.
3. Echaide, E. 2005. Jornada sobre enfermedades emergentes del bovino (en línea). Consultado 20 dic. 2008. Disponible en <http://images.google.com.ar/imgres?imgurl=http://www.monografias.com/trabajos30/neosporacaninum/Image260.gif&imgrefurl=http://www.monografias.com/trabajos30/neospora-caninum/neospora-caninum.shtml&h=394&w=600&sz=56&hl=es&start=1&um=1&tbnid=uLLgZPMa7rxEcM:&tbnh=89&tbnw=135&prev=/images%3Fq%3Dneospora%2B%26um%3D1%26hl%3Des>.
4. Gottstein, B. 2005. *Neospora caninum*: causa de aborto en bovinos (en línea). Consultado 16 sep. 2009. Disponible en <http://www.cdvsa.com.ar/Images/pdf/Neosporosis.pdf>.
5. More, DP. et al. 2005. Neosporosis bovina: conceptos generales, Inmunidad y perspectivas para la vacunación (en línea). Consultado 10 nov. 2008. Disponible en [http://www.inta.gov.ar/balcarce/info/documentos/ganaderia/bovinos/sanidad/enf\\_repro/MooreNeospActualiz2005.pdf](http://www.inta.gov.ar/balcarce/info/documentos/ganaderia/bovinos/sanidad/enf_repro/MooreNeospActualiz2005.pdf).



6. More, DP, et al. 2005. Neosporosis bovina: conceptos generales, inmunidad y perspectivas para la vacunación (en línea). Consultado 16 sep. 2009. Disponible en [http://www.produccionanimal.com.ar/sanidad\\_intoxicaciones\\_metabolicos/Parasitarias/parasitarias\\_bovinos/115-neosporiosis.pdf](http://www.produccionanimal.com.ar/sanidad_intoxicaciones_metabolicos/Parasitarias/parasitarias_bovinos/115-neosporiosis.pdf).
7. Muñoz Hernández, AL. 2004. Puesta a Punto de la Técnica en Cadena de las Polimerasas (PCR), Para el Diagnóstico de Neospora caninum en Tejido Nervioso Central de Fetos Bovinos Abortados (en línea). Consultado 16 sep. 2009. Disponible en <http://biblioteca.uct.cl/tesis/andrea-munoz/tesis.pdf>.
8. Venturini, MC. 2003. Neosporosis Epidemiología y Diagnóstico (en línea). Consultado 20 sep. 2008, Disponible en [http://cniia.inta.gov.ar/helminto/resumenes/rtandil\\_04](http://cniia.inta.gov.ar/helminto/resumenes/rtandil_04).



## ***XI. ANEXOS***

## XI. ANEXOS

### Anexos 11.1

#### LISTADO DE VACAS MUESTREADAS QUE PRESENTAN PROBLEMAS REPRODUCTIVOS, OBTENIDO EN LA FINCA SAN VICENTE, TECPAN GUATEMALA

No.	No. Vaca	No. Servicios	Historia	
1	511	3	1 AB ORTO,DESCARTE	
2	518	3	1 PERDIDA, OVARIOS DEFORMES	
3	531	0	RENCA	
4	533	8	QUISTES FOLICULARES, NO QUEDA PREÑADA	
5	564	3	1 PERDIDA, MASTITIS, SINCRONIZADA, RENCA	GESTANTE
6	574	9	1 PERDIDA	
7	639	7	1 PERDIDA MOMIAS, ABORTO	
8	650	4	1 PERDIDA DESCARTE	
9	659	4	2 PERDIDAS	GESTANTE
10	688	3	SALPINGITIS 1 PERDIDA	GESTANTE
11	692	3	1 PERDIDA, UROBAJINA SINCRONIZADA	
12	700	3	1 PERDIDA	
13	703	5		
14	708	1	RENCA	
15	717	2	2 PERDIDAS	
16	746	5	1 PERDIDA	
17	759		NO ESTA SERVIDA	
18	768	2	1 PERDIDA 235 DIAS	
19	778	3	2 PERDIDAS	GESTANTE
20	787	2	1 PERDIDA 158 DIAS	
21	807	4	2 PERDIDAS	GESTANTE
22	823	4	2 PERDIDAS, MOMIA	GESTANTE
23	857	2	1 PERDIDA, 324 DIAS	
24	866	4	SINCRONIZADA VARIAS VECES, QUISTE FOLICULAR	
25	884	2	1 PERDIDA	
26	887	4	SINCRONIZA, OVARIOS DEFORMES	
27	912	3	SINCRONIZADA VARIAS VECES, QUISTE FOLICULAR	
28	924	1	1 PERDIDA DE 103 DIAS	
29	954	1	MASTITIS, SUCIA, OVARIO PEQUEÑO	
30	955	2	1 PERDIDA MOMIA DE 215 DIAS	
31	967	7	RENCA	
32	975	2	SALPINGITIS OVARIO PEQUEÑO	
33	977	4	2 PERDIDAS	
34	989	2	1 PERDIDA SINCRONIZADA VARIAS VECES	GESTANTE
35	B-3		MASTITIS, R. PLACENTA, PIOMETRA, DESCARTE	



## Anexo 11.2

### CONTROL DE MUESTRAS EN EL LABORATORIO CON LOS RESULTADOS DEL ANÁLISIS, POR LA PRUEBA DE ELISA

No. Orden	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
No. Identificación	700	531	957	688	975	866	807	977	823	650	778	989
D.O/650 nm.	1.321	0.175	0.077	0.073	1.449	1.759	1.843	0.100	1.550	0.159	1.246	0.070
Resultado +/-	Positiva	Negativa	Negativa	Negativa	Positiva	positiva	Positiva	Negativa	positiva	Negativa	Positiva	Negativa

No. Orden	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24
No. Identificación	518	703	511	574	639	787	708	746	759	839	884	857
D.O/650 nm.	0.128	0.067	0.154	0.059	1.906	1.862	1.140	0.140	0.080	1.075	1.722	0.115
Resultado +/-	Negativa	Negativa	Negativa	Negativa	Positiva	Positiva	Positiva	Negativa	Negativa	Positiva	Positiva	Negativa

No. Orden	25	26	27	28	29	30	31	32	33	34	35	
No. Identificación	887	692	924	B-3	533	659	912	564	955	768	717	
D.O/650 nm.	1.546	0.137	1.684	0.089	0.943	0.057	0.084	0.058	1.236	0.732	0.076	
Resultado +/-	Positiva	Negativa	Positiva	Negativa	Positiva	Negativa	Negativa	Negativa	positiva	Positiva	Negativa	

Los rangos de D.O (densidad óptica) para los controles negativos son de 0.069 en promedio

Los rangos de D.O (densidad óptica) para controles positivos son de 0.613 en promedio

**Anexo 11.3**

**RESULTADOS OBTENIDOS A TRAVES DE LA PRUEBA DE  
ELISA DE LOS ANIMALES DE LA FINCA SAN VICENTE**

<b>Número de Orden</b>	<b>Número de Identificación</b>	<b>RESULTADO (Positivo/Negativo)</b>
1	700	Positiva
2	531	Negativa
3	967	Negativa
4	688	Negativa
5	975	Positiva
6	866	Positiva
7	807	Positiva
8	977	Negativa
9	823	Positiva
10	650	Negativa
11	778	Positiva
12	989	Negativa
13	518	Positiva
14	703	Negativa
15	511	Negativa
16	574	Negativa
17	639	Positiva
18	787	Negativa
19	708	Positiva
20	746	Negativa
21	759	Negativa
22	839	Positiva
23	884	Positiva
24	857	Negativa
25	887	Positiva
26	692	Negativa
27	924	Positiva
28	B-3	Negativa
29	533	Positiva
30	659	Negativa
31	912	Negativa
32	564	Negativa
33	955	Positiva
34	768	Positiva
35	717	Negativa

## Anexo 11.4 Tablas y Gráficas

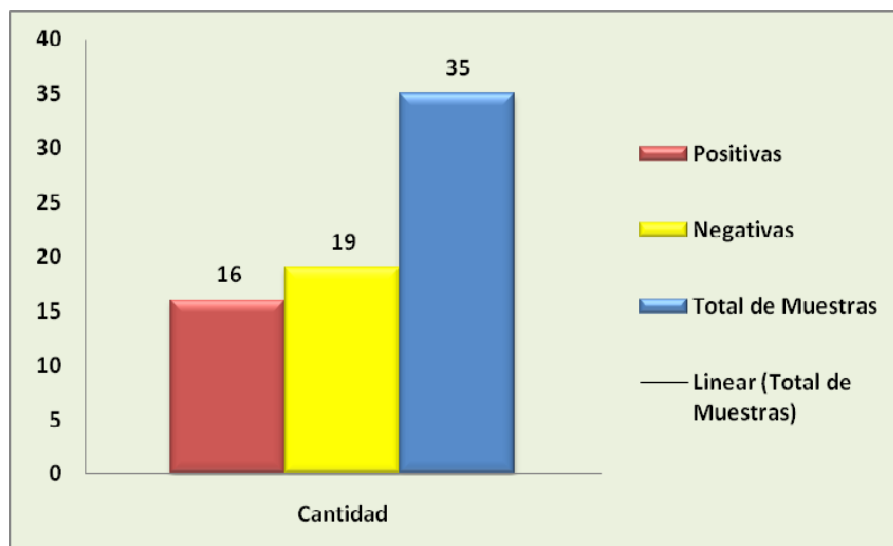
### 11.4.1 Tabla:

#### Diagnóstico de las muestras de los Bovinos de la Finca San Vicente

Diagnóstico	Cantidad
Positivas	16
Negativas	19
Total de Muestras	35

### 11.4.2 Gráfica:

#### Diagnóstico de las muestras de los Bovinos de la Finca San Vicente



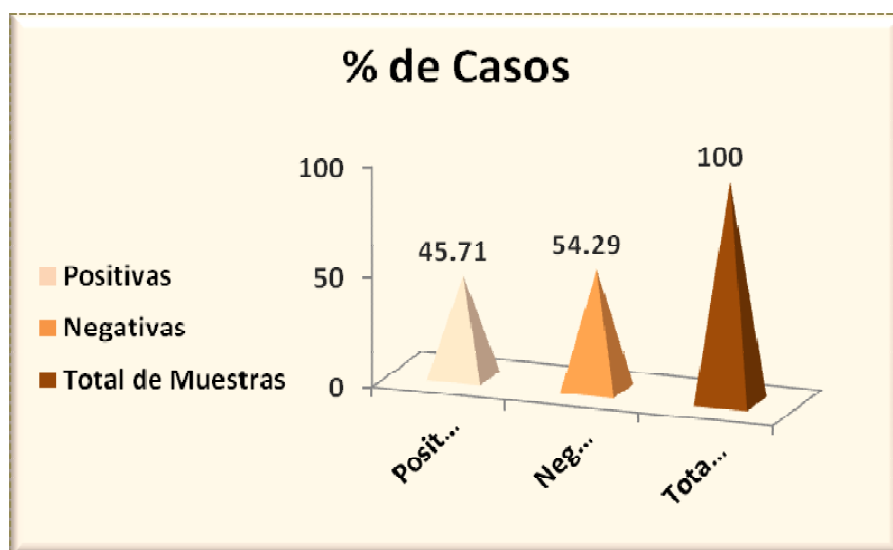
#### 11.4.3 Tabla:

**Porcentaje de las muestras de los Bovinos de la Finca San Vicente**

Diagnóstico	% de Casos
Positivas	45.71
Negativas	54.29
Total de Muestras	100

#### 11.4.4 Gráfica

**Porcentaje de las muestras de los Bovinos de la Finca San Vicente**



## **Anexo 11.5 Fotografías**

### **Anexo 11.5.1 Fotografía 1.**



**Toma de Muestra de sangre (Vena Yugular)**

### **Anexo 11.5.2 Fotografía 2.**



**Muestras de sangre (separación de suero)**

**Anexo 11.5.3 Fotografía 3.**



**Procedimiento de laboratorio a través de la prueba de ELISA**

**Anexo 11.5.4 Fotografía 4**



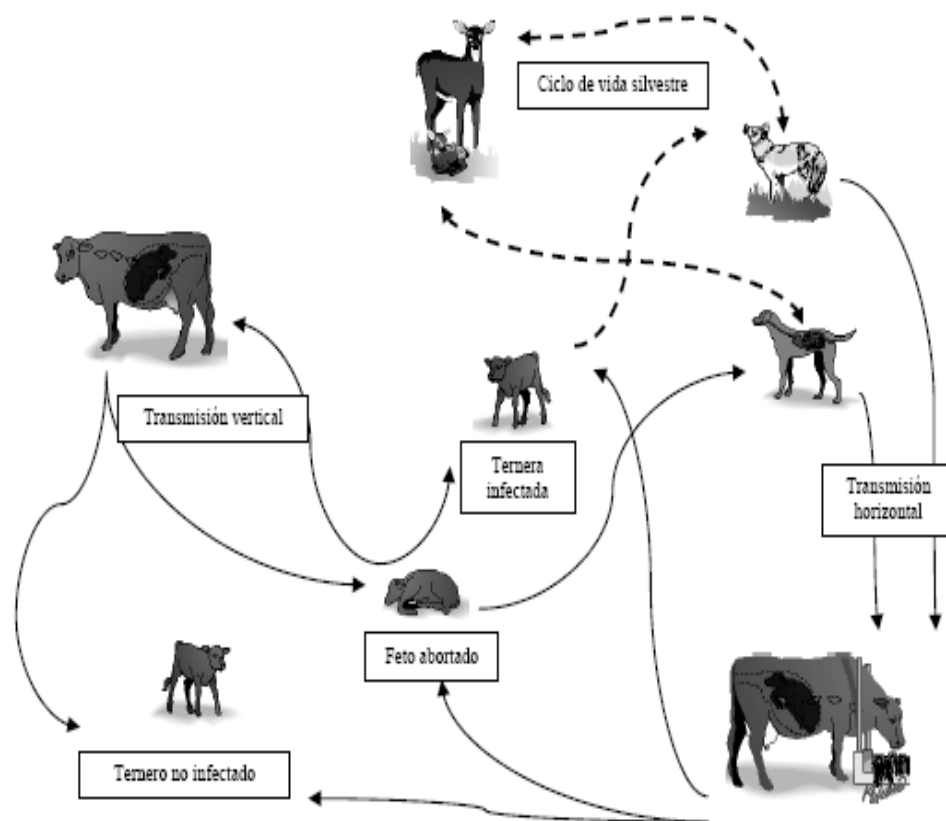
**Procedimiento de laboratorio a través de la prueba de ELISA**

## **XII. APÉNDICES**

## XII. APÉNDICES

### Apéndice12.1

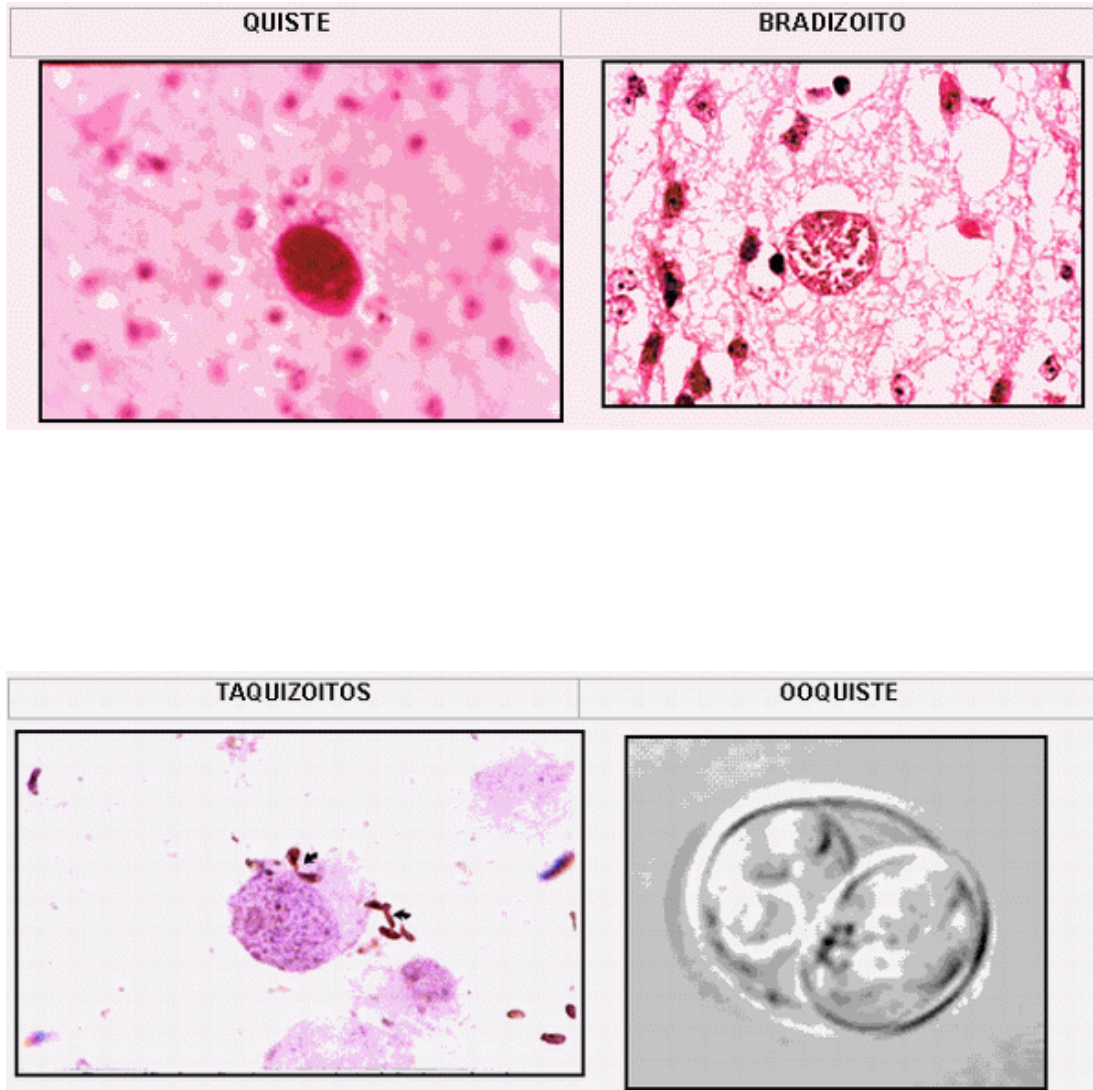
#### Ciclo Evolutivo de *Neospora caninum*





## Apéndice 12.2

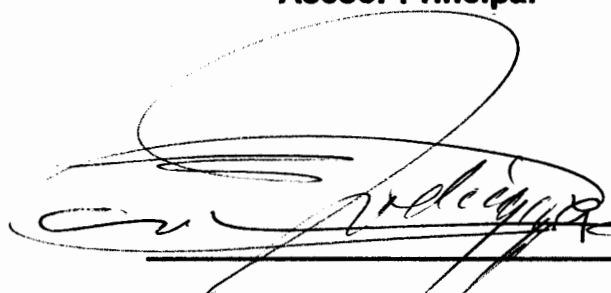
### Fases durante el ciclo de vida de *Neospora caninum*



(3)

  
**Sergio Josué Salazar García**  
**PERITO CONTADOR**

  
**M.V. Leonidas Ávila Palma**  
**Asesor Principal**

  
**M.V. Manuel Eduardo Rodríguez Zea**  
**Asesor**

  
**M.V. MSP Jaime Rolando Méndez Sosa**  
**Asesor**

  
**M.V. Leonidas Ávila Palma**  
**Decano**



**IMPRIMASE**